

特許協力条約

PCT

特許性に関する国際予備報告（特許協力条約第二章）

（法第12条、法施行規則第56条）

〔PCT36条及びPCT規則70〕

出願人又は代理人 の書類記号 A181-10PCT	今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP2005/005285	国際出願日 (日.月.年) 23.03.2005	優先日 (日.月.年) 25.03.2004
国際特許分類 (IPC) Int.Cl. C12N15/09 (2006.01), A01H5/00 (2006.01), C12Q1/68 (2006.01)		
出願人 (氏名又は名称) 独立行政法人科学技術振興機構		

<p>1. この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。 法施行規則第57条（PCT36条）の規定に従い送付する。</p> <p>2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。</p> <p>3. この報告には次の附属物件も添付されている。</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> 附属書類は全部で 8 ページである。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面の用紙（PCT規則70.16及び実施細則第607号参照）</p> <p><input type="checkbox"/> 第I欄4.及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙</p> <p>b. <input type="checkbox"/> 電子媒体は全部で (電子媒体の種類、数を示す)。 配列表に関する補充欄に示すように、電子形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含む。 (実施細則第802号参照)</p>	
<p>4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 第I欄 国際予備審査報告の基礎</p> <p><input type="checkbox"/> 第II欄 優先権</p> <p><input type="checkbox"/> 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成</p> <p><input type="checkbox"/> 第IV欄 発明の単一性の欠如</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 第V欄 PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明</p> <p><input type="checkbox"/> 第VI欄 ある種の引用文献</p> <p><input type="checkbox"/> 第VII欄 国際出願の不備</p> <p><input type="checkbox"/> 第VIII欄 国際出願に対する意見</p>	

国際予備審査の請求書を受理した日 08.12.2005	国際予備審査報告を作成した日 03.04.2006	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 飯室 里美 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4B 2936

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (2005年4月)

第 I 欄 報告の基礎

1. 言語に関し、この予備審査報告は以下のものを基礎とした。

- ☒ 出願時の言語による国際出願
☐ 出願時の言語から次の目的のための言語である _____ 語に翻訳された、この国際出願の翻訳文
- ☐ 国際調査 (PCT 規則 12.3(a) 及び 23.1(b))
☐ 国際公開 (PCT 規則 12.4(a))
☐ 国際予備審査 (PCT 規則 55.2(a) 又は 55.3(a))

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第 6 条 (PCT 14 条) の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書

第 1-50、52-73 _____ ページ、出願時に提出されたもの

第 51 _____ ページ*、08.12.2005 付けで国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ ページ*、 _____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 請求の範囲

第 20-21 _____ 項、出願時に提出されたもの

第 _____ 項*、PCT 19 条の規定に基づき補正されたもの

第 1-2、19、22-23 _____ 項*、16.03.2006 付けで国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ 項*、 _____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 図面

第 1-28 _____ ページ/図、出願時に提出されたもの

第 _____ ページ/図*、 _____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ ページ/図*、 _____ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☒ 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ

☒ 請求の範囲 第 3-18 _____ 項

☐ 図面 第 _____ ページ/図

☐ 配列表 (具体的に記載すること) _____

☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること) _____

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT 規則 70.2(c))

☐ 明細書 第 _____ ページ

☐ 請求の範囲 第 _____ 項

☐ 図面 第 _____ ページ/図

☐ 配列表 (具体的に記載すること) _____

☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること) _____

* 4. に該当する場合、その用紙に "superseded" と記入されることがある。

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、
それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲 1-2、19-23	有
	請求の範囲	無
進歩性(IS)	請求の範囲 1-2、19-23	有
	請求の範囲	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲 1-2、19-23	有
	請求の範囲	無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: Theor Appl Genet, 2003, Vol.107, pp.965-971

文献2: Breeding Science, 2001, Vol.51, pp.171-177

文献3: Plant Breeding, 2000, Vol.119, pp.517-519

文献4: Theor Appl Genet, 1999, Vol.99, pp.727-732

請求の範囲 1-2、19-23

前記請求の範囲 1-2、19-23 に記載された発明は、国際調査報告で引用した文献1-4 に対して、新規性及び進歩性を有する。

上記文献には、はるな二条とH602とを交配して得られた集団を用いて得られた前記請求の範囲に記載された特定の遺伝マーカーについては、記載も示唆もされていない。

配列表に関する補充欄

第 I 欄 2. の続き

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際予備報告を作成した。
- a. タイプ ☒ 配列表
☐ 配列表に関連するテーブル
- b. フォーマット ☐ 紙形式
☒ 電子形式
- c. 提出時期 ☒ 出願時の国際出願に含まれていたもの
☐ この国際出願と共に電子形式により提出されたもの
☐ 出願後に、調査又は審査のために、この国際機関に提出されたもの
☐ _____ 付で、この国際予備審査機関が補正*として受理したもの
2. ☐ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見：

*第 I 欄 4. に該当する場合、国際予備審査報告書の基礎となる配列表又は配列表に関連するテーブルに "superseded" と記入されることがある。

MAPMAKER/QTLとQTL Cartographerを用いた。LODスコアの閾値を2に設定し、LODスコアが2を超えた場合に当該2つのマーカー区間の最もLODの大きな位置にQTLの存在を推定した。

〔結果〕

DHHS集団の結果を表1に、RI1集団の結果を表2に、RI2集団の結果を表3に示した。なお上記表1～3中の「Population」は「QTL解析を行なった集団名」を意味し、「Trait」は「形質」を意味し、「Chromosome」は「遺伝マーカーが座する染色体」を意味し、「Marker interval (M1-A-QTL-B-M2)」は「QTLの近傍に座し、該QTLを挟む2つの遺伝マーカー (M1、M2)」を意味し、「Distance (cM) A+B」は「QTLを挟む2つの遺伝マーカー間の距離」を意味し、「Position^{a)} (cM) A」は「遺伝マーカーM1とQTL間の距離」を意味し、「Position (cM) B」は「遺伝マーカーM2とQTL間の距離」を意味し、「LOD^{b)} Score」は「LODスコアのピーク値」を意味し、「Var. (%)^{c)}」は「QTLの存在により表現型の分散の何 (%) を説明することができるかを示す値」を意味し、「Weight^{d)}」は「QTLの存在により上記大麦縞萎縮病抵抗性のスコアがどれだけ上がるかを示す値」を意味している。

〔表1〕

Population	Trait	Algorithm	Chromosome	Marker interval (M1-A-QTL-B-M2)	Distance (cM) A+B	Position ^{a)} (cM) A	Position (cM) B	LOD ^{b)} score	Var. ^{c)} (%)	Weight ^{d)}
DHHS	Resistance to BaYMV									
		SIM	1H	k00256-k02948	7.8	7.8	0.0	2.5	12.5	0.4
		SIM	3H	k04143-k00169	13.4	0.0	13.4	4.4	2.1	-0.5
		CIM	3H	k04143-k00169	13.4	13.1	0.3	2.2	34.7	-0.9
		SIM	1H	k02948-k03861	15.5	0.0	15.5	2.5	12.5	0.4
		CIM	1H	k03616-k02325	5.7	1.4	4.3	2.6	16.3	-0.6
		SIM	3H	k00169-k07966	4.8	0.0	4.8	4.4	2.1	-0.5
		CIM	3H	k04143-k00169	13.1	13.1	0.0	3.5	30.6	-0.8

a): Distance of peak LOD score position from the left side marker

b): Peak LOD score of significant marker interval

c): Explained variance of peak LOD score

d): Estimated additive effect

請求の範囲

〔１〕（補正後）大麦縞萎縮病抵抗性に関与する遺伝子座に連鎖する遺伝マーカーであって、

オオムギの１Ｈ染色体中に存在し、

配列番号１に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号２に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第一プライマーセットを用いて増幅されることを特徴とする遺伝マーカー。

〔２〕（補正後）大麦縞萎縮病抵抗性に関与する遺伝子座に連鎖する遺伝マーカーであって、

請求項１に記載の遺伝マーカーを含み、かつ、

下記（１）～（１７）に示される大麦縞萎縮病抵抗性に関与する遺伝子座に連鎖する遺伝マーカーからなる群から選択される１つ以上の遺伝マーカーを含むことを特徴とする遺伝マーカー：

（１）オオムギの１Ｈ染色体中に存在し、配列番号３に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号４に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第二プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

（２）オオムギの１Ｈ染色体中に存在し、配列番号１９に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号２０に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第五プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

（３）オオムギの１Ｈ染色体中に存在し、配列番号２１に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号２２に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第六プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

（４）オオムギの１Ｈ染色体中に存在し、配列番号２３に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号２４に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第七プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

（５）オオムギの２Ｈ染色体中に存在し、オオムギのゲノムＤＮＡを制限酵素ＭｓｅⅠおよびＥｃｏＲⅠで消化して得られるＤＮＡ断片に、

配列番号４７および４８に示される塩基配列を有するＭｓｅⅠアダプター、並びに配列番号４９および５０に示される塩基配列を有するＥｃｏＲⅠアダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後のDNA断片を配列番号51に示される塩基配列を有するMseIユニバーサルプライマーおよび配列番号52に示される塩基配列を有するEcoRIユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、

さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号25に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号26に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第八プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

(6) オオムギの2H染色体中に存在し、配列番号27に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号28に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第九プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

(7) オオムギの3H染色体中に存在し、配列番号5に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号6に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第三プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

(8) オオムギの3H染色体中に存在し、配列番号7に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号8に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第四プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

(9) オオムギの3H染色体中に存在し、オオムギのゲノムDNAを制限酵素MseIおよびEcoRIで消化して得られるDNA断片に、

配列番号47および48に示される塩基配列を有するMseIアダプター、並びに配列番号49および50に示される塩基配列を有するEcoRIアダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後のDNA断片を配列番号51に示される塩基配列を有するMseIユニバーサルプライマーおよび配列番号52に示される塩基配列を有するEcoRIユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、

さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号29に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号30に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

(10) オオムギの3H染色体中に存在し、オオムギのゲノムDNAを制限酵素MseIおよびEcoRIで消化して得られるDNA断片に、

配列番号 47 および 48 に示される塩基配列を有する M s e I アダプター、並びに配列番号 49 および 50 に示される塩基配列を有する E c o R I アダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後の D N A 断片を配列番号 51 に示される塩基配列を有する M s e I ユニバーサルプライマーおよび配列番号 52 に示される塩基配列を有する E c o R I ユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、

さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号 31 に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号 32 に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十一プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

(11) オオムギの 3 H 染色体中に存在し、配列番号 33 に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号 34 に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十二プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

(12) オオムギの 4 H 染色体中に存在し、オオムギのゲノム D N A を制限酵素 M s e I および E c o R I で消化して得られる D N A 断片に、

配列番号 47 および 48 に示される塩基配列を有する M s e I アダプター、並びに配列番号 49 および 50 に示される塩基配列を有する E c o R I アダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後の D N A 断片を配列番号 51 に示される塩基配列を有する M s e I ユニバーサルプライマーおよび配列番号 52 に示される塩基配列を有する E c o R I ユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、

さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号 35 に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号 36 に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十三プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；

(13) オオムギの 4 H 染色体中に存在し、オオムギのゲノム D N A を制限酵素 M s e I および E c o R I で消化して得られる D N A 断片に、

配列番号 47 および 48 に示される塩基配列を有する M s e I アダプター、並びに配列番号 49 および 50 に示される塩基配列を有する E c o R I アダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後の D N A 断片を配列番号 51 に示される塩基配列を有する M s e I ユニバーサルプライマーおよ

び配列番号52に示される塩基配列を有するEcoRIユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、

さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号37に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号38に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十四プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカ；

(14) オオムギの4H染色体中に存在し、オオムギのゲノムDNAを制限酵素MseIおよびEcoRIで消化して得られるDNA断片に、

配列番号47および48に示される塩基配列を有するMseIアダプター、並びに配列番号49および50に示される塩基配列を有するEcoRIアダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後のDNA断片を配列番号51に示される塩基配列を有するMseIユニバーサルプライマーおよび配列番号52に示される塩基配列を有するEcoRIユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、

さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号39に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号40に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十五プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカ；

(15) オオムギの4H染色体中に存在し、オオムギのゲノムDNAを制限酵素MseIおよびEcoRIで消化して得られるDNA断片に、

配列番号47および48に示される塩基配列を有するMseIアダプター、並びに配列番号49および50に示される塩基配列を有するEcoRIアダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後のDNA断片を配列番号51に示される塩基配列を有するMseIユニバーサルプライマーおよび配列番号52に示される塩基配列を有するEcoRIユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、

さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号41に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号42に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十六プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカ；

(16) オオムギの5H染色体中に存在し、オオムギのゲノムDNAを制限酵素MseIおよびEcoRIで消化して得

られる DNA 断片に、

配列番号 47 および 48 に示される塩基配列を有する M s e I アダプター、並びに配列番号 49 および 50 に示される塩基配列を有する E c o R I アダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後の DNA 断片を配列番号 51 に示される塩基配列を有する M s e I ユニバーサルプライマーおよび配列番号 52 に示される塩基配列を有する E c o R I ユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、

さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号 43 に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号 44 に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十七プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー；および

(17) オオムギの 5H 染色体中に存在し、オオムギのゲノム DNA を制限酵素 M s e I および E c o R I で消化して得られる DNA 断片に、

配列番号 47 および 48 に示される塩基配列を有する M s e I アダプター、並びに配列番号 49 および 50 に示される塩基配列を有する E c o R I アダプターをライゲーションし、

前記ライゲーション後の DNA 断片を配列番号 51 に示される塩基配列を有する M s e I ユニバーサルプライマーおよび配列番号 52 に示される塩基配列を有する E c o R I ユニバーサルプライマーを用いて予備増幅を行ない、さらに、前記予備増幅によって得られた予備増幅断片を配列番号 45 に示される塩基配列を有するプライマーと、配列番号 46 に示される塩基配列を有するプライマーとの組み合わせである第十八プライマーセットを用いて増幅される遺伝マーカー。

[3] (削除)

[4] (削除)

[5] (削除)

[6] (削除)

[7] (削除)

[8] (削除)

[9] (削除)

[1 0] (削除)

[1 1] (削除)

[1 2] (削除)

[1 3] (削除)

[1 4] (削除)

[1 5] (削除)

[1 6] (削除)

[1 7] (削除)

[1 8] (削除)

〔19〕（補正後）請求項1または2に記載の遺伝マーカーを用いて大麦縞萎縮病抵抗性に関与する遺伝子座を含むDNA断片を単離することを特徴とするDNA断片の単離方法。

〔20〕請求項19に記載のDNA断片の単離方法により得られた上記大麦縞萎縮病抵抗性に関与する遺伝子座を含むDNA断片を、オオムギのゲノムDNAに導入することを特徴とする大麦縞萎縮病抵抗性オオムギの生産方法。

〔21〕請求項20に記載の大麦縞萎縮病抵抗性オオムギの生産方法によって得られた大麦縞萎縮病抵抗性オオムギ。

〔22〕（補正後）請求項1または2に記載の遺伝マーカーを指標として、大麦縞萎縮病抵抗性オオムギを選抜する方法。

〔23〕（追加）請求項1または2に記載の遺伝マーカーが固定されていることを特徴とする遺伝子検出器具。